

⑤

Int. Cl. 2:

C 07 H 5/06⑯ **BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**

A 61 K 31/70

DEUTSCHES**PATENTAMT**

DE 27 08 667 A 1

Behördenangabe

⑪

Offenlegungsschrift 27 08 667

⑫

Aktenzeichen:

P 27 08 667.5

⑬

Anmeldetag:

28. 2. 77

⑭

Offenlegungstag:

31. 8. 78

⑮

Unionspriorität:

⑮ ⑯ ⑰

①

Bezeichnung:

N-Decanoyl-D-glucosamin, Arzneimittel mit Strahlenschutzwirkung und Adjuvanseigenschaften

②

Anmelder:

Institut pour la Recherche et la Production d'Immunostimulants-GIRPI, Montrouge (Frankreich)

③

Vertreter:

Vossius, V., Dipl.-Chem. Dr. rer.nat., Pat.-Anw., 8000 München

④

Erfinder:

Nowotny, Alois, Abington, Pa. (V.St.A.)

DE 27 08 667 A 1

GUTSCHRIFT

● 8. 78 809 835/418

5/90

5 u.Z.: M 125 (Vo/kä)

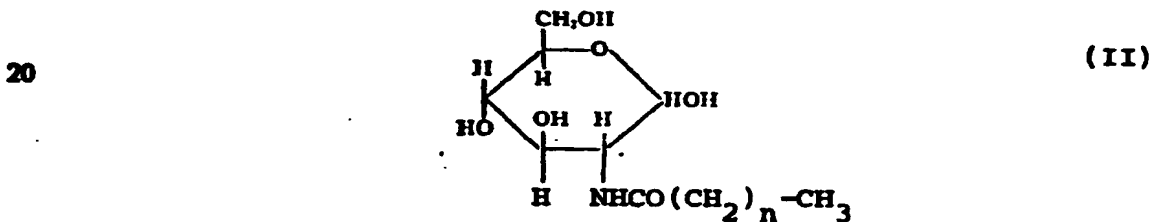
INSTITUT POUR LA RECHERCHE ET LA PRODUCTION
D'IMMUNOSTIMULANTS - GIRPI,
92120 Montrouge, Frankreich

10 " N-Decanoyl-D-glucosamin, Arzneimittel mit Strahlenschutz-
wirkung und Adjuvanseigenschaften "

P a t e n t a n s p r ü c h e

15 1. N-Decanoyl-D-glucosamin.

2. Arzneimittel mit Strahlenschutzwirkung, gekennzeichnet
durch einen Gehalt an einem N-Acyl-D-glucosamin der allge-
meinen Formel II



in der n den Wert 8 bis 14 hat.

25 3. Arzneimittel nach Anspruch 2, gekennzeichnet durch einen
Gehalt an N-Decanoyl- oder N-Myristoyl-D-glucosamin.

4. Arzneimittel mit unspezifischen Adjuvanseigenschaften
zur Verstärkung der Immunreaktion gegen Antigene, gekenn-
zeichnet durch einen Gehalt an N-Lauroyl-D-glucosamin.

809835/041

ORIGINAL INSPECTED

NACHGEREICHT
2708667

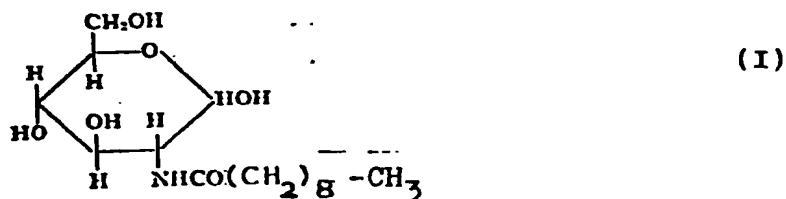
u.Z.: M 125

INSTITUT POUR LA RECHERCHE ET LA PRODUCTION
D'IMMUNOSTIMULANTS - GIRPI
92120 Montrouge, Frankreich

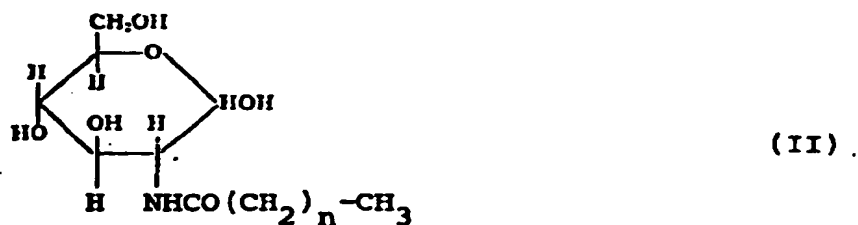
" N-Decanoyl-D-glucosamin, Arzneimittel mit Strahlenschutz-
wirkung und Adjuvanseigenschaften "

Die Erfindung betrifft den in den Ansprüchen gekennzeichneten
Gegenstand.

N-Decanoyl-D-glucosamin hat die Formel I



Die in den Arzneimitteln der Erfindung verwendeten N-Acyl-D-
glucosamine haben die allgemeine Formel II



in der n den Wert 8 bis 14 hat.

Spezielle Beispiele für Verbindungen der allgemeinen Formel
II sind N-Decanoyl-D-glucosamin (NDG), N-Myristoyl-D-glucos-
amin (NMG), N-Palmitoyl-D-glucosamin (NPG) und N-Lauroyl-D-
glucosamin (NLG).

809835/0418

1 Die Verbindungen der allgemeinen Formel II haben die Eigen-
schaft, Säugetiere und Menschen gegen die Wirkungen ionisie-
render Strahlung zu schützen. Bevorzugt sind für diese Strah-
lenschutzwirkung Arzneimittel, die NDG oder NMG enthalten.

5

Die Verbindungen der allgemeinen Formel II können nach an-
sich bekannten Methoden aus einem D-Glucosamin, beispielswei-
se β -D-Glucosamin, oder dessen Salz, beispielsweise einem
Hydrohalogenid, wie dem Hydrochlorid, und einem Fettsäureha-
logenid der allgemeinen Formel III

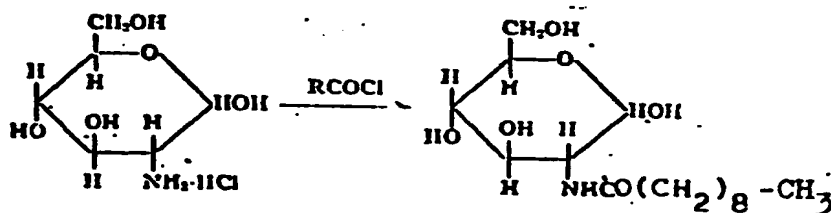
10



in der X ein Halogenatom, vorzugsweise ein Chloratom, dar-
stellt und n den Wert 8 bis 14 hat, hergestellt werden. Am
Beispiel der Umsetzung von Decanoylchlorid mit D-Glucosamin-
hydrochlorid verläuft die Umsetzung nach folgendem Reaktions-
schema:

15

20



Die Umsetzung wird in Gegenwart eines Halogenwasserstoff-
Acceptors und vorzugsweise in Gegenwart eines Lösungsmittels
durchgeführt, in welchem das N-Acyl-D-glucosamin unlöslich
ist.

25

2708667

Nachstehend wird eine allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel II gegeben.

10 mMol des Fettsäurechlorids, beispielsweise des Decanoyl-, Myristoyl-, Lauroyl- oder Palmitoylchlorids, werden in 10 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran gelöst. Die erhaltene Lösung wird unter Rühren bei Raumtemperatur in eine Lösung von 10 mMol D-Glucosamin-HCl in 20 ml einer 10prozentigen wässrigen Natriumcarbonatlösung eingetropft. Nach beendeter Zugabe wird das Reaktionsgemisch noch weitere 60 Minuten gerührt und sodann mit dem 10-fachen Volumen Wasser versetzt. Die entstandene weiße Fällung wird auf einem Büchner-Trichter abgesaugt und zwei Mal aus 50prozentigem heißem Propanol umkristallisiert.

Die Ergebnisse der Elementaranalysen und die Schmelzpunkte von NDG, NLG, NMG und NPG sind in Tabelle I zusammengefaßt.

Tabelle I

N-Acyl-D-glucosamin	C		H		N		F., °C
	ber.	gef.	ber.	gef.	ber.	gef.	
	%	%	%	%	%	%	
NDG	55,61	57,66	9,38	9,25	4,20	4,04	194-196
NLG	59,77	59,74	9,76	9,68	3,88	3,83	190-191
NMG	61,65	61,64	10,10	10,01	3,60	3,59	195-197
NPG	63,26	63,31	10,38	10,26	3,35	3,45	202-204

Die Strahlenschutzwirkung der in Tabelle I aufgeführten Verbindungen sowie von zwei Vergleichsverbindungen, nämlich einem aus *Serratia marcescens* 08 nach der Methode von Boivin,

809835/0418

1 modifiziert von A. Nowotny u. Mitarb., Ann. N.Y.Acad.Sci.,
133 (19), S. 586, isolierten Lipopolysaccharid (LPS) und
einer durch 30minütige Behandlung des LPS mit 1 n Salzsäure
bei 100°C erhaltenen Polysaccharid-reichen Fraktion (PS), wird
5 an weiblichen Mäusen des ICR-Stammes untersucht. Zu diesem
Zweck werden wässrige Emulsionen bzw. Dispersionen der zu
untersuchenden Verbindungen folgendermaßen hergestellt:

Zwei Milligramm der Verbindung werden in 20 ml Äthanol durch
10 30minütiges Erhitzen im Wasserbad gelöst. Sodann wird die
Lösung in einem 500 ml fassenden Vakuum-Drehverdampfer, der
mittels eines warmen Wasserbades beheizt wird, langsam einge-
dampft. Nach dem Abdestillieren des Äthanols bildet die Ver-
bindung auf der Innenwand des Drehverdampfers eine dünne
15 Schicht. Der Drehverdampfer wird sodann in einem Eisbad kurz
abgekühlt. Hierauf werden 20 ml zweifach destilliertes Wasser
zugegeben. Der Drehverdampfer wird mehrere Minuten lang
kräftig geschüttelt. Danach wird der Inhalt des Dreh-
verdampfers in ein 50 ml Becherglas entleert und die Suspen-
20 sion 2 Minuten bei 1,7 A mit Ultraschall behandelt. Danach
zeigen sich unter dem Lichtmikroskop kleine Fettröpfchen
(Liposomen). Nach einer Bestimmung des Trockengewichts wird
die Emulsion auf eine Konzentration von 50 µg/ml eingestellt.

25 Versuchsmethodik:

Gruppen von jeweils 10 Mäusen werden einzeln mit insgesamt
700 R mittels eines Maxitron 300 Röntgengenerators bei einer

Stromstärke von 20 mA, einer Erzeugerspannung von 300 kV und einer Filterung von 0,26 mm Kupfer und 1,05 mm Aluminium, entsprechend einer Halbwertsdicke (HWD) von 1,10 mm Kupfer, bestrahlt. Bei einem Fokus-Objektabstand von 60 cm beträgt die Einfallsdosis 235 R/min, bestimmt mit einem Victoreen-Dosimeter Modell 154. Diese Bestrahlung ist für die Kontrollgruppe letal.

Zwei Tage vor der Bestrahlung wird den Mäusen intraperitoneal 10 γ LPS, 10 γ PS bzw. 50 γ einer Verbindung der allgemeinen Formel II injiziert. In Tabelle II sind die Überlebensraten zusammengefaßt.

Tabelle II

Testverbindung	% Überlebende Mäuse nach Bestrahlung					
	Tag 1	Tag 6	Tag 12	Tag 18	Tag 24	Tag 30
LPS	100	90	80	80	80	80
PS	100	70	50	50	40	40
NDG	100	90	60	40	40	40
NLG	100	90	30	10	10	10
NMG	100	90	40	40	40	40
NPG	100	90	50	30	20	20
Kontrollgruppe	100	80	0			

Aus Tabelle II ist ersichtlich, daß sämtliche untersuchten Verbindungen die Überlebenszeit signifikant verlängern. NDG und NPG sind nahezu gleich wirksam wie PS, das als starkes Mittel gegen ionisierende Strahlung bekannt ist.

809835/0418

1 Der Vorteil der Verbindungen der allgemeinen Formel II, insbesondere von NDG und NPG, gegenüber PS ist darin zu erblicken, daß diese Verbindungen auf chemischem Wege leicht und in reiner Form hergestellt werden können.

5

Die Verbindungen der allgemeinen Formel II sind praktisch ungiftig. Dies haben übliche Endotoxizitätstests ergeben, nämlich der Hauttest nach Schwartzman (vgl. A. Nowotny in "Basic Exercises in Immunochemistry", 1969, Springer Verlag, New York), der Hühnerembryo-Letalitätstest (vgl. Smith und Thomas, J.Exp. Med., Bd. 93 (19), S. 107) und der Limulus-Lysatstest (vgl. Levin u.Mitarb., New Engl. J. Med., Bd. 283 (1970), S. 1313).

15 Beim Hauttest nach Schwartzman erfolgte bei keinem der Mittel eine positive Reaktion bei einer Dosis von 50 γ , während eine Dosis von 2,5 γ Endotoxin eine deutlich erkennbare Hämorrhagie in der Haut der Kaninchen erzeugte. Beim Hühnerembryo-Letalitätstest lag bei den erfindungsgemäß verwendeten
20 Verbindungen bei einer Dosis von 10 γ i.v. die Abtötungsrate unter 20 %, während die LD₅₀ für das Endotoxin im gleichen Test einen Wert von 0,006 γ hat. Beim Limulus-Lysatstest zeigte sich nur bei dem NPG-Präparat eine geringe Aktivität. Alle untersuchten Präparate sind jedoch um einen Faktor von 10⁴
25 bis 10⁵ weniger aktiv als das Endotoxin-Präparat. Die Aktivität der Präparate blieb auch nach wiederholter Umkristallisation gleich. Somit kann die Möglichkeit einer Verunreinigung durch Endotoxin ausgeschlossen werden.

809835/0418

1 NLG und in geringerem Ausmaß auch NPG haben ferner eine sig-
nifikant unspezifische Adjuvanswirkung. Sie verstärken eine
Immunreaktion des Wirts gegen Antigene. Dies haben Versuche
an Mäusen ergeben, denen humanes Gamma-Globulin oder Schaf-
5 Erythrocyten als natürliche Antigene injiziert wurden.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel II können zu üblichen
Darreichungsformen konfektioniert werden. Besonders bevor-
zugt sind Injektionspräparate, die den Arzneistoff als Disper-
10 sion oder Emulsion in einer wasserhaltigen oder in wäßriger
Lösung enthalten.

Die Arzneimittel der Erfindung können Patienten gegeben wer-
den, die ionisierender Strahlung ausgesetzt sind oder denen
15 Immunosuppressiva zur Behandlung maligner Neoplasien gegeben
werden.

20

25

809835/0418

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.